

METHODS OF IMPROVING ALLOGRAFT OR XENOGRAFT TOLERANCE BY ADMINISTRATION OF AN LFA-3 OR CD2 BINDING PROTEIN

Publication number: JP7502495T

Publication date: 1995-03-16

Inventor:

Applicant:

Classification:

- international: A61K38/00; A61K31/573; A61K38/17; A61K39/395;
A61K45/00; A61P9/00; A61P13/12; A61P37/00;
A61P37/06; A61P43/00; C07K14/705; C07K16/28;
A61K38/00; A61K45/00; A61K31/57; A61K38/00;
A61K38/17; A61K39/395; A61P9/00; A61P13/00;
A61P37/00; A61P43/00; C07K14/435; C07K16/18;
A61K38/00; (IPC1-7): A61K39/395; A61K38/00;
A61K39/395

- european: A61K38/17C; C07K14/705B10; C07K14/705B22;
C07K16/28A10; C07K16/28A22

Application number: JP19920507247T 19921006

Priority number(s): WO1992US08754 19921006; US19910772705
19911007; US19920850706 19920312

Also published as:



WO9306852 (A3)
WO9306852 (A2)
EP0607353 (A3)
EP0607353 (A2)
JP2003128579 (A)

more >>

Report a data error here

Abstract not available for JP7502495T

Abstract of corresponding document: **WO9306852**

Methods of improving tolerance of transplanted xenograft tissue or allograft tissue in mammals, including humans, by the administration of LFA-3 or CD2 binding proteins.

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide

int.Cl. ⁹	識別記号	庁内整理番号	F I
6 1 K 39/395		D 9284-4C	
38/00	ABA		
	ABC		
		8314-4C	
		A 6 i K 37/ 02	ABA
			ABC
	審査請求	未請求	予備審査請求 有
			(全 27 頁) 最終

出願番号	特願平5-507247	(71)出願人	バイオゲン インコーポレイテッド
(22)出願日	平成4年(1992)10月6日		アメリカ合衆国 02142 マサチ
用訳文提出日	平成6年(1994)4月7日		ッ州 ケインブリッジ ケインフ
国際出願番号	PCT/US92/08754		センター 14
国際公開番号	WO93/06852	(72)発明者	ウォルナー、バーバラ ビー.
国際公開日	平成5年(1993)4月15日		アメリカ合衆国 02139 マサチ
優先権主張番号	772, 705		ッ州 ケインブリッジ センター
優先日	1991年10月7日		ート 7
優先権主張国	米国 (US)	(72)発明者	ベンジャミン、クリストファー
優先権主張番号	850, 706		アメリカ合衆国 01915 マサチ
優先日	1992年3月12日		ッ州 ベヴァリー オーク ヒル
優先権主張国	米国 (US)		2
		(74)代理人	弁理士 三好 秀和 (外1名)
			最終

【発明の名称】 特定種の F A - 3 または C D 2 結合蛋白質を投与することによる同種移植または異種移植性を改善するための方法

【要約】

F A - 3 または C D 2 結合蛋白質の投与により、人を含む哺乳動物に移植した同種移植組織または異種移植組織の寛容性を改善する方法。

前記 LFA-3 結合蛋白質を投与することを特徴とする請求項 1 に記載の方法。

前記 LFA-3 結合蛋白質が可溶性の CD2 ポリペプチドであることを特徴とする請求項 2 に記載の方法。

前記 LFA-3 結合蛋白質がモノクローナルな抗 LFA-3 抗体であることを特徴とする請求項 3 に記載の方法。

前記モノクローナル抗 LFA-3 抗体が受入番号 AHB 10698 (1E8)、ATCC HB 894 (HC-1B11)、ATCC HB 15 (7A8)、ATCC HB 10896 (8) を有するハイブリドーマから選択されるハイブリドーマにより生成されるか、あるいは、モノクローナル S2/9 であることを特徴とする請求項 5 に記載の方法。

前記モノクローナル抗 LFA-3 抗体が受入番号 AHB 10898 (1E8) を有するハイブリドーマにより生成されることを特徴とする請求項 6 に記載の方法。

前記結合蛋白質が完全長の免疫グロブリン鎖のモノマーおよびダイマーから選択されることを特徴とする請求項 15 に記載の方法。

前記移植組織が異種移植組織であることを特徴とする請求項 1 に記載の方法。

前記移植組織が心臓または腎臓の異種移植組織であることを特徴とする請求項 17 に記載の方法。

前記移植組織が同種移植組織であることを特徴とする請求項 1 に記載の方法。

前記移植組織が心臓または腎臓の同種移植組織であることを特徴とする請求項 13 に記載の方法。

前記哺乳動物が人間であることを特徴とする請求項 1 に記載の方法。

前記移植組織が前記哺乳動物に移植される前に前記結合蛋白質で被覆されることを特徴とする請求項 1 に記載の方法。

前記結合蛋白質が体重 1 kg 当たり約 0.1 から 10 mg の間の投与量で投与されることを特徴とする請求項 1 に記載の方法。

前記 LFA-3 結合蛋白質が体重 1 kg 当たり約

1.1. 前記可溶性 LFA-3 ポリペプチドが SEQ ID NO: 2 の AA₁-AA₂、SEQ ID NO: 2 の AA₁-AA₂、SEQ ID NO: 2 の AA₁ および SEQ ID NO: 2 の AA₂ から成るポリペプチドの群から選択されることを特徴とする請求項 10 に記載の方法。

1.2. 前記 LFA-3 ポリペプチドが SEQ ID NO: 2 の AA₁-AA₂ であることを特徴とする請求項 11 に記載の方法。

1.3. 前記結合蛋白質が人間化した抗体であることを特徴とする請求項 1 に記載の方法。

1.4. 前記結合蛋白質がキメラ抗体であることを特徴とする請求項 1 に記載の方法。

1.5. 前記結合蛋白質が Fab フラグメント、F(ab')₂ フラグメント、F(ab')₂ フラグメントおよび抗 LFA-3 または抗 CD2 ポリペプチドの完全な免疫グロブリン鎖であることを特徴とする請求項 15 または 16 に記載の方法。

2.6. 前記 CD2 結合蛋白質が体重 1 kg 当たり約 0.1 および約 2 mg の間の投与量で投与されることを特徴とする請求項 3 に記載の方法。

2.7. 前記 CD2 結合蛋白質が体重 1 kg 当たり約 0.1 および約 1 mg の間の投与量で投与されることを特徴とする請求項 26 に記載の方法。

2.8. 前記結合蛋白質を前記移植の前に 2 日間毎日 1 回投与し、当該移植後に 1 日ないし 1 週間毎日 1 回投与することを特徴とする請求項 1 に記載の方法。

2.9. 前記結合蛋白質を前記移植の前に 2 日間毎日 1 回投与し、当該移植後に 2 週間続けて投与することを特徴とする請求項 28 に記載の方法。

3.0. 前記結合蛋白質が前記移植の前に前記移植組織からの組織と同時に投与されることを特徴とする請求項 17 に記載の方法。

3.1. 前記同時期投与の後に、前記結合蛋白質の投与が行われることを特徴とする請求項 1 に記載の方法。

3.2. 前記結合蛋白質を前記移植の前に 2 日間

前記異種移植供給源からの細胞が組産であることを特徴とする請求項30または32に記載の方法。

前記血液蛋白質が静脈内、筋肉内、皮下、関節内、内、骨髄、経口、鼻所または吸入を介して投与されとを特徴とする請求項1に記載の方法。

前記結合蛋白質が静脈内または筋肉内に投与されとを特徴とする請求項33に記載の方法。

前記結合蛋白質が免疫系の免疫抑制剤と共に投与することを特徴とする請求項1に記載の方法。

前記免疫抑制剤がシクロスポリンであることを特徴とする請求項33に記載の方法。

前記免疫抑制剤がプレドニソンであることを特徴とする請求項33に記載の方法。

前記免疫抑制剤がプレドニソンおよびシクロスポリンであることを特徴とする請求項33に記載の方法。

前記結合蛋白質がLFA-3結合蛋白質、CD2蛋白質および膜から成る群から選択される1種以上蛋白質に連絡することを特徴とする請求項1に記載の方法。

明細書

例のLFA-3またはCD2結合蛋白質を投与することによる同種移植または異種移植の寛容性を改変する方法

出願は1991年10月7日に提出し、現在係属中
特許番号7/772705号の一部継続出願である

技術的分野

発明は、人間を含む哺乳類において、移植した異種細胞または同種移植細胞の寛容性をLFA-3またはCD2結合蛋白質を投与することにより改変する方法である。

背景

移植細胞とは同一種の中の遺伝的に非同一な個で移植される細胞をいう。このような、心臓、腎臓、肝臓、脾臓、骨髄、肺および皮膚等の組織の移植が種々の末期段階の病気の治療のために医療におい

2のAA₁-AA₂、SEQ ID NO
-AA₂およびSEQ ID NO:2の、
から成る群から選択されることを特徴とし
3に記載の方法。

45. 前記可溶性LFA-3ポリペプチド、
ID NO:2のAA₁-AA₂であることを
請求項44に記載の方法。

46. 前記結合蛋白質がSEQ ID NO
-AA₂から成ることを特徴とする請
求の方法。

000人の心臓同種移植の受容者の内の僅か
入のみが心臓移植を受けているだけである。
「心臓移植の危険性」(Ann. Thor.
Surg. 47, p. 635 (1988))。

そこで、ドナー組織の他の供給源について
まわっている。このような供給源としては、
株が一例として挙げられ、これは一の種から
移植組織をいう。

ただし、これら同種移植および異種移植
として、受容者によるドナーの移植組織の拒
このような移植における問題は移植体はまだ
されていない免疫システムの一連の作用によ
えられている。一般的に、このような免疫系
の二つの面がある。1)細胞性免疫:主にT
細胞から成り、該細胞は異種細胞またはウィ
ルスを攻撃して殺す。2)体液性免疫:両方
で特異的である抗体を分泌するプラズマ細胞
細胞の延長から成る。

また、当種移植拒絶は、リンパ球等の移植
細胞への免疫的浸透 (pyroglucosyl

、このようなＴリンパ球の機能的対象物や抗原提示細胞の相互作用は高度に特異的であり、当該Ｔリンパ球上の多くの特異的な抗原受容体の一による機能的または抗原提示細胞の表面上の抗原の認識に依存

ようなＴリンパ球や他の細胞の受容体－抗原相互、例えば、抗原－受容体複合体ＣＤ３やＣＤ４、－１、ＣＤ８およびＣＤ２等の補助分子群の種々のリンパ球表面蛋白質により容易化されている。さらに、細胞相互作用は機能的対象物または抗原提示細胞の表面に表現されるＬＦＡ－３、ＩＣＡＭ－１およびＭＨＣ補助分子によっても影響を受ける。

Ｔ細胞活性についてのＣＤ２とＬＦＡ－３との相互作用はまだ十分に理解されていないが、最近の知見、ＣＤ２（Ｔリンパ球の補助的粘着性分子）とＬＦＡ－３（機能的細胞および抗原提示細胞の補助分子）とは特異的な相互作用があり、これによって、Ｔリンパ球が機能的細胞や抗原提示細胞に付着することが示唆

されている（参照例：Walton他、「リンパ球相互作用の分子生物学」、pp. 362-64 (1986)）。これまで、二種類のＬＦＡ－３の自然形態が同定されており、膜ＬＦＡ－３の一形態（「トランスメンブリンＬＦＡ－３」）はトランスメンブリン疎水性ドメイン細胞膜内に埋没する。さらに、このＬＦＡ－３のコードするcDNAがクローン化されシーケンスされている（参照例：Walton他、「リンパ球相互作用の分子生物学（ＬＦＡ－３）の主要遺伝子」(J. Exp. Med., 163, pp. 928-32 (1987))。また、当該ＬＦＡ－３の他の一形態はホスファイノシトール（「PI」）含有の新断片との共有介して細胞膜に埋没する。この後者の形態は「膜ＬＦＡ－３」として示され、当該膜ＬＦＡ－３のコードするcDNAもまたクローン化されシーケンスされている（Walton他、Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 84, pp. 3835-39 (1987)）。

ＣＤ２（Ｔ１１）分子は９５％以上の成熟リンパ球に発現するすべての未成熟リンパ球上に表面化される膜表面糖蛋白質である。特異的なモノクローナル抗体を用いた生化学的分析により、ＣＤ２がＴリネージ

の細胞特異受容体（Ann. Rev. Immunol., 5, pp. 223-56 (1987)）としてＬＦＡ－３／ＣＤ２相互作用は、抗原非依存性による複合体形成や赤血球を作るＴリンパ球分化において、Ｔリンパ球と胸腺上皮細胞との相互作用を仲介する（参照例：Seed他、「高感度法による、ＣＤ２抗原、Ｔ細胞赤血球受容体のクローニング」(Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 84, pp. 3835-39 (1987))。ＬＦＡ－３は人間の赤血球等の種々の細胞の表面に見られ、種々のＴリンパ球の相互作用に割をさらに明瞭にするべく、多大な研究の進展している（参照例：Krensky他、「ＬＦＡ－３およびＬＦＡ－２の機能的意義、分布とＣＴＬ－細胞間相互作用を行う細胞表面抗原」(Immunol. 131 (2), pp. 611-16 (1983))、Shanmugam他、「人間細胞障害性Ｔ細胞に用いられる二種類の抗原依存型付着分

子」(J. Exp. Med., 163, pp. 2117-22 (1986))、Drownsukocyte Typing III, ed. M. Haezel, Oxford University Press, pp. 110-12 (1987)、Seed他、「Ｔ細胞DNAの分子クローニングによる人間Ｔリンパ球上の受容体細胞精選を呈示するcDNA」(Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 84, pp. 2941-45 (1987))。また、２遺伝子のシーケンスは既に報告されている（およびAnzures他、「高感度選択法による抗原、Ｔ細胞赤血球受容体の分子クローニング」(Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 84, pp. 3365-69 (1987))、Sayer (1987)）。さらに、ＬＦＡ－３結合を介する直接ＣＤ２ポリペプチドが報告されて（Ｔ特許公報WO 90/08187）。

また、例えばTS2/18、T11、T11.1等のＣＤ２に対するモノクローナル抗体はTS2/8等のＬＦＡ－３に対するモノクローナル抗体とまた報告されている（参照例：Hugh

rdilone)、シクロスポリン(cyclosporin)、アザチオプリンあるいはシクロホスファミド等の薬剤により行われている。また、移植免疫抑制して反応するすおよびリンパ球を賦活するために照光法も採用されている。しかしながら、これらの技法による免疫抑制は抗がん剤の致死性副作用を生じることができ、そのため、患者の免疫的座落を多大に引き起こすおそれがある。加えて、上述した免疫抑制技法の長期使用により、他の不利な副作用が生じる。例えば、長期的シクロスポリン治療は腎臓病、高血圧および悪性腫瘍の発症率を伴う。

させる等の幾つかの既知の方法によりアッセイすることが出来る。また、該融合特性は酵素によりラベル化し、
相当な二次的抗体を用いてもアッセイすることが可能
である。さらに、Seed値 (Proc. Natl. A
cad. Sci. USA, 84, pp. 2385-59
[987]) において記載されるようなロゼット融合
アッセイも使用することが出来る。

また、LFA-3およびCD2結合蛋白質のT細胞活
性を阻害する能力は従来のT細胞活性アッセイのいずれ
により決定することが出来る。なお、これらは、例え
ば、分化促進因子(マイトゲン)に応じてT細胞の増殖
と細胞分裂を阻害する結合蛋白質の能力や、他の細胞
表面蛋白質に対してモノクローナル抗体を反応化する能
力(参照例: Moltingon, 「CD2の構造的特
性」 (Immunological Rev., 11
pp. 111-44 (1988)) を評価するア
ッセイを含む。

(3 (1982)) により生成されるモノクローナル
LFA-3抗体を用いることがより好ましい。さら
にも好ましくは、受入番号ATCC HB 108
(IE6) を有するハイブリドーマにより生成され
るモノクローナル抗LFA-3抗体を用いることである。
また、抗CD2抗体のうち、好ましいモノクローナル
抗体は、TS2/18 (Sánchez-Madrid
同上 (1982)) を含むT11; エピトープ抗体
として知られるモノクローナル抗体を含む。

このようなモノクローナル抗体を生成する技術は周知
であり、簡単に言えば、不死細胞系(一般に骨髓腫細胞
系)の抗原から成る標品 (preparation)
より免疫化(接種)した哺乳動物体のリンパ球(一般
に腫細胞)に融合し、結果として生じるハイブリド
マ培養上清を当該抗原に対する抗体についてスク
リーニングする(参照: Kohler他, 「所定特異性
融合細胞分泌抗体の連続培養」 [Nature, 25
pp. 495-97 (1975)])。なお、本発
明の目的に有用な免疫原はLFA-3抗原またはCD2
抗原、並びに、LFA-3、CD2、またはこれら

(truncated) 形態が含まれる。

A. 抗体

本発明において有用なLFA-3および
白質は、モノクローナル抗体、組換え抗体
系抗体、人間化組換え抗体、およびこれらの
部分を含む。好ましくは、当該抗体はモノ
クローナルである。

なお、受入番号ATCC HB 108
, ATCC HB 10894 (HC-1
TCC HB 10605 (7A6)、お
HB 10595 (8D8) を有するハ
(細胞系) の数から選択されたハイブリ
ドマは、TS2/18として知られるモノク
ロナル [Sánchez-Madrid他, 「人
幹-線系の細胞増殖を伴う三種の異なる抗
LFA-3およびLFA-3」 [Pr
i. Acad. Sci. USA, 79, p

質等(例: 以下に記載するLFA3T1P
-6、CD2またはこれらの部分の抗原体

なお、免疫反応は標準的技法により行う。
単位投与および接種方法は従来知られる
通り、免疫状態、体重等に依存する。一般に、
哺乳動物から血液が採取され、適当なスク
リーニングを用いて特別な抗体について各個体
が評価される。例えば、それぞれの細胞
LFA-3およびCD2の存在から生じる単
クローナル細胞のロゼット形成を阻止
する血清の能力をインビトロにおけるT細胞
の能力、あるいは、細胞間能力をスクリーニ
ングすることにより、有用な抗LFA-3お
びCD2抗体が同定される。一般に、ハイブリド
マに使用されるリンパ球は、接種されて上記
のスクリーニングを用いてその効率が所望の抗
体について既に陽性であると判定された哺乳動物
から得られる。

一般に、不死細胞系(例: 骨髓腫細胞系)
から哺乳動物からリンパ球細胞として評価する。

スクリーニングにより、所望の抗体を生成するハイ
ーマが検出される。また、有用なハイブリドーマ
は「細胞活性の相互作用力についてのスクリーニ
ンを行うことができる。なお、モノクローナル
抗体のために限界第2によるハイブリドーマ培養
クローニングが一般に行われている。

に、抗LFA-3および抗CD2モノクローナル
生成するために、上記スクリーニングアッセイに
関連と判定されたハイブリドーマ細胞を、所定の
地において、当該ハイブリドーマ細胞がモノク
ル抗体を当該培養増殖中に分泌するに十分な時間
下で培養する。このようなハイブリドーマ細胞培
養の組織培養技術および培養増殖は周知である。
上記の如き細胞を除いたハイブリドーマ培養の上
は改良することができ、所望の抗体を必要に応じ
の方法によりさらに精製することも可能である。
、当該所望の抗体はブリスタン12、8、10、
オトラメチルペンタデカン〔アルドリツシケミカ

なる表現ベクタに挿入することもできるが、通常、
表現ベクタに挿入される。

場合、原核または真核宿主細胞が変換宿主として
きる。なお、真核宿主細胞は原核細胞に代して選
りたためれば免疫学的に特異的な抗体を組み合わせ
しやすいので、当該真核宿主細胞を使用するの方
しい。しかしながら、周知の方法により、不適切
たためにより不特異性となつたいかなる抗体も再生
とが可能である（KimおよびBoydwin、
白質の折りたたみ反応における特異的中間体およ
質の折りたたみ機構」〔Ann. Rev. Biochem. 51, pp. 459-89 (1982)〕
、該宿主細胞は鎖ダイマーまたはH鎖ダイマー
発明に有用な完全抗体の部分を生成することが可
る。

に、上述の方法における種々の変形もまた本発明
で有用となる。例えば、抗LFA-3または抗CD
抗体のL鎖またはH鎖のいずれか（両方ではない）
トするDNAを用いて宿主細胞を形質転換するこ
題である。また、例えばDNA断片を、LFA-

また、本発明において有用なLFA-3およ
結合蛋白質は、所望の抗体の免疫グロブリンL
鎖をコードするDNAにより形質転換した宿
あるいは、これらのLFA-3またはCD2結
より生成した組換え抗体であってもよい。この
組換え抗体は周知の遺伝子工学的技術により生成
ができる（参照：本明細書において参考文献
載の米国特許第4818397号）。

例えば、組換え抗体は、本発明において有
を生成するハイブリドーマから所望の抗体の免
グリン鎖およびH鎖をコードするDNAまた
DNAをクローニングすることにより生成する
きる。その後、これらのポリペプチドをコード
DNAまたはゲノムDNAは表現ベクタ内に挿入
NAシーケンスの両方が一以上の転写および翻
訳シーケンスに連結する。さらに、これらの発
および表現制御シーケンスから上記の表現宿主
して適合性のあるものが選ばれる。DNAの両

成することができ、この場合、1本のH鎖およ
L鎖がLFA-3またはCD2に対して特異的
かつ、他のH鎖およびL鎖がLFA-3または
他の抗原若しくはLFA-3またはCD2の他
ープに対して特異的である。

また、所望の免疫グロブリン鎖およびH鎖
するDNAから受ける適当な表現ベクタを用いて
を形質転換することにより、モノクローナル抗体
ることができる。この場合、当該L鎖および/
鎖のヒンジ領域および不変領域をコードするD
べてまたは一部が異なる種の免疫グロブリンL
鎖鎖の対応する細胞からのDNAにより置き換
いる。元の組換え抗体が人間のものではなく、
FA-3または抗CD2抗体が人間に投与され
人間のシーケンスに対応する置き換えを行うこ
しい。創作的なモノクローナル抗体としては、マ
免疫領域と人間のヒンジ領域および不変領域とを
のが挙げられる（参照：米国特許第48183
およびMoffricson等、「モノクローナル抗体免
不変領域ドメインを含むマウス免疫結合ドメ

特許第0239400号))。

また、完全でない抗LFA-3および抗CD2抗体も本発明において有用である。なお、このような抗体は上述の抗体のいずれかから誘導することができる。例えば、上述の抗体から誘導する抗原結合フラグメントは完全長モノマー、ダイマーまたはトリマーポリペプチドがそれ自体で有用である。この型の有用な結合蛋白として、Fabフラグメント、Fab'フラグメント、(ab')₂フラグメント、F(v)フラグメント、単モノマーまたはダイマー、鎖モノマーまたはダイマー、1個のH鎖および1個のL鎖から成るダイマー等挙げられる。

当該抗体フラグメントは、例えば、ペプシンまたはバイン等のプロテアーゼを用いる完全抗原の崩壊、および当該崩壊生成物の還元剤による処理等の化学的方法によっても生成することができる。また、有用なフラグメントを部分切除したH鎖および/またはL鎖の遺伝子より影響転換した宿主細胞を用いることによって生成

することも米国特許第4956283号および同時に共同譲渡されている米国特許出願01/6679号および07/770957号に記載されている。し可溶性LFA-3ポリペプチドとしては、SEQ ID NO: 2のAA₁-AA₁₂、SEQ ID NO: 2のAA₁-AA₁₀、SEQ ID NO: 2のAA₁およびSEQ ID NO: 2のAA₁₀から成るポリペプチドが含まれる。SEQ ID NO: 2をコードするDNAシーケンス(すなわちQ ID NO: 1)から成るバクテリオファージ入器質ATCC75107においてアノリカンタイムチャートコレクション(Rockville, Maryland)に記載されている。

可溶性LFA-3ポリペプチドはまたPCT特許出090/02181号に記載されるもの等のLFAのPI遊離形態から誘導できる。なお、当該PI遊離LFA-3をコードするDNAシーケンス(すなわちQ ID NO: 9)から成るベクターが受入番号C68788においてアメリカンタイプカルチャコレクション(Rockville, Maryland)

: Ward他、(大腸菌から分泌した単一リン可変ドメインの範疇における結合特異性、841, pp. 544-46 (1981)他、(モノクローナルな接触抗体の大腸菌における免疫学的な範疇における、H鎖可変領域特異性cDNAライブラリProc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 728-32 (1989)))。

B. 可溶性CD2およびLFA-3ポリペプチド
本発明の方法において有用なLFA-3結合蛋白質は可溶性CD2およびLFA-3を含む。このうち、可溶性LFA-3はより好ましい。

可溶性LFA-3ポリペプチドはLPLS膜タンパク質形態、特に、細胞外ドメインQ ID NO: 2のAA₁-AA₁₂) することができる。このようなポリペプチドは

膜タンパク質形態から誘導するものと同一

また、可溶性CD2ポリペプチドは完全に、その細胞外ドメイン(例: SEQ ID NO: 1のAA₁-AA₁₂) から誘導することが可能なポリペプチドはCD2の細胞外ドメインおよび一部分から誘導できる。好適な可溶性ポリペプチドが参考文献でもあるPCT WO 87に記載されている。

本発明において有用な可溶性ポリペプチド誘導において知られる種々の方法により行われる。例えば、膜タンパク質を完全なLPLS LFA-3またはCD2分子、若しくは、LFA-3分子から、エクソペプチド結合した特定のエンドペプチダーゼ、エンド、あるいはこれらの両方による蛋白質分解による。このような完全なLFA-3分子、CD2分子は従来の方法によりその天然の誘導することができる。また、該完全なLFA-3またはCD2はcDNAを用いて既知の塩基配列を生成することもできる(制限例: Ward)

ドまたは可溶性CD2ポリペプチドをコードするシーケンスはオリゴヌクレオチドシンセサイザの化学的取扱いにより合成することができる。このオリゴヌクレオチドは所望の可溶性LFA-3ポリペプチドや可溶性CD2ポリペプチドのアミノ酸シーケンスに基づいて設計される。さらに、該所望のポリペプチドに対する特定のDNAシーケンスのコード化は、4回エンドヌクレアーゼフラグメントの単離や所定のPCR合成によって、完全なDNAシーケンスを得ることができる。

これらの可溶性LFA-3およびCD2ポリペプチドは形質転換した宿主細胞の発酵や培養により単離される。さらに、種々の従来法のいずれかによって精製することが可能である。発酵者においては、最も好適でありおよび精製法を選択することが可能である。

このDNA技法は20個以上のアミノ酸シーケンスを含む有用な可溶性CD2ポリペプチドや可溶性LFA-3ポリペプチドを生成する好ましい方法であるが、

例として、404-07 (1990)))。

可溶性LFA-3およびCD2結合蛋白質

この方法において有用なものとしては上述のLFA-3およびCD2結合蛋白質の融合体や混成体を含むものも含まれ、当該LFA-3やCD2結合蛋白質は1種以上の同一または異なるLFA-3およびCD2結合蛋白質、薬剤あるいはこれらの両方に機能させる（化学的培養あるいは遺伝的融合等による）。

このような融合蛋白質の1種は、2種以上のLFA-3またはCD2結合蛋白質（同一種または異なる種）の架橋により生成される。この場合に関連するものは、ヘテロ二官能性の、適当なスペーサに付した2種の異なる反応基を有するもの（例：m-クロロベンゾイル-N-ヒドロキシスクシンイミド）や、ホモ二官能性のもの（例：スベリン酸、ジシイミジル）が含まれる。また、連結剤として、ケミカル社（Pierce Chemical Company, Rockford, Illinois）

本発明の方法において有用なし？A-3およびCD2結合蛋白質には、当該LFA-3およびCD2結合蛋白質が含まれる。このような物質はペプチド、単糖化合物または非ペプチド化合物であり、CD2-3融合物質）やLFA-3（CD2融合物質）として、CD2/LFA-3相互作用、T細胞活性化はこれらの両方を阻害する。

このような融合物質は複数のペプチド（例：個々のアミノ酸長）、半ペプチド化合物、非ペプチドまたは有機化合物を合成した後、CD2/LFA-3相互作用の阻害能力またはT細胞活性化の阻害能力はこれらの両方について当該化合物をスクリーニングすることにより生成することかできる（参照：例として、483802号、ScottおよびSmith、ヒトT細胞アプタザリを用いたペプチドリガンド（Science, 249, pp. 886-890）、Devlin氏、「ランダムペプチドリ：特定蛋白結合分子の供給源」（Science

）をコードするDNAは所望のポリペプチドまたは可溶性LFA-3ポリペプチドをコードする下流で連結する。もしもこのような構成が適当な細胞において発現されれば、当該細胞はP1シーケンスを認識してP1をポリペプチドに共有する。而して、該P1の疎水性によりポリペプチド凝集体が形成される。

また、1種以上の薬剤に連結したLFA-3/CD2結合蛋白質（例：融合または融合蛋白質）用である。この場合、有用な薬剤としては、LFA-3やCD2以外のポリペプチドに対して特異的な生物学的に活性なペプチド、ポリペプチドおよび単糖が含まれる。また、その他の有用な薬剤例えば、シクロスポリンA、ブレグニリン、FK506（トレキセート）、ステロイドおよびレチノイド阻害剤が挙げられる。

また、好ましい派生的融合蛋白質としては、強により生成されたポリペプチドがあり、この融合LFA-3ポリペプチド、可溶性CD2ポリペプチドまたはペプチジルCD2やペプチジルLFA-3

SEQ ID NO: 2をコードするDNAシーケン
（すなわちSEQ ID NO: 1）から成るバクテ
リオファージがアメリカンタイプカルチャーコレクション
（Rockville, Maryland）に受入番
A T C C 7 5 1 0 7 で寄託されている。

この種の最も好ましい融合蛋白質は、成熟したLFA-3
のD2鎖のアミノ酸から成るアミノ末端、内部結合
スルフィド結合に関与すると考えられる2鎖のシステ
ン残基を含む人間IgG、ヒンジ領域の10個のアミ
ノ酸から成るC1領域、および人間IgG1鎖の不変ド
メインのC12およびC13領域（例：SEQ ID
NO: 3）を含む。以下、このような融合蛋白質を「L
FA3TIP」と称する。典型的なLFA3TIPをコ
ードするプラスミドpSAB152がアメリカンタイプ
カルチャーコレクション（Rockville, Mar
yland）に受入番号A T C C 6 8 7 2 0 で寄託され
ている。また、当該pSAB152の挿入のDNAシー
ンスはSEQ ID NO: 7である。

ーナル抗血清を用いてウェスタンブロット上で検出さ
る後、山羊の抗ラビグGでラベル化される。この
J57細胞の増殖されたLFA3TIPはジスルフィ
ド結合により連結した2種のモノマーLFA-3-Ig
G蛋白質の二量体であった。

本発明による薬剤組成物および方法

本発明による方法は哺乳類動物に移植組織と1種以上
の宿主を含むLFA-3またはCD2結合蛋白質を投
与することにより同種移植組織または異種移植組織の寛
容性を改善する。このLFA-3またはCD2結合蛋白質
は薬剤組成物の一部として投与することらできる。

すなわち、有用な薬剤組成物は宿主株を含む1種以上
のLFA-3またはCD2から成り、一般に、薬学的に
許容可能なキャリア内に収容されている。なお、「薬学
に許容可能なキャリア」とは投与体である患者におい
てアレルギー反応や不都合な作用を強めないキャリアを
表す。

この場合、薬学的に許容可能な好適キャリアとして、
例えば、水、生理食塩水、リン酸塩バッファー組成した

タインAセファロース4B（Sigma,
is. Missouri）のクロマトグラ
れる。その後、結合した蛋白質は溶出さ
ース（Superose）-12（Phar
macal KB, Piscataway, New
York）のゲル濾過クロマトグラフィにかける。

このスーパーコース-12のフラクショ
ン化蛋白質のLFA3TIPを含む。この
析（SDS-PAGE）およびウェスタン
blotting）分析により決定
例：Towbin他、（Proc. Natl
Sci. USA, 74, pp. 4350-
51）、抗体（A Laboratory
J, pp. 474-610（Cold S
Harbor Laboratory（1
当該フラクションは集められ、YMB05
（Centricon）（AMICON）
される。該LFA3TIPはうきぎ両LF

より組成されているもよい。

このような本発明に有用なLFA-3ま
たは蛋白質や組織物は上述の如く定義した同
種移植組織に対する寛容性を改善し得る量と
いて「効果的な量」で投与されることが好

なお、当該者においては、当該効果的な
量やCD2結合蛋白質が、とりわけ、投与
単位投与量、該LFA-3またはCD2結
合の薬剤との組み合わせで投与されるか否
に依り、寛容性および健康状態、投与された特定の
たはCD2結合蛋白質の治療的並びに予防

さらに、上記薬剤組成物は一般的な免疫
使用することとも可能である。これらは、例
スチリン、アザチオプリン、および、メチ
ロン アセテート（Depo-Medrol
プレドニゾン、サトリウム、スクシネー
medrol）等のステロイド、および
哺乳動物における免疫応答を抑制するに効
用とされるブレンドロンを含む。例として、

、上記薬剤組成物は癌の治療剤または予防剤か
れていてもよい。また、これらのLFA-3ま
たは結合蛋白質やその他の活性剤は単一の複合
態であってもよい。なお、当該2種の化合物の
当業界において周知の標準的製法によって
また、同一分子は相換え融合蛋白質の形態をも
つ。この付加的な免疫抑制剤、治療剤または予防剤は
悪形癌において該LFA-3またはCD2結合
共に投与することができる。また、該LFA-3
結合蛋白質とは別にかつこれと同時に複合的
において投与することもでき、さらに、これら
の2つにかつ連続的に投与する複合的投与形態に
変換することもできる。このような組み合わせは
免疫抑制剤や治療剤または予防剤の少量の投与
が有利である。

上記の薬剤組成物としてLFA-3またはCD2結
合蛋白質の形態を採り得る。例えば、錠剤、乳剤、

それがなくなるまで1日当たり約1回投与され
、該LFA-3またはCD2結合蛋白質または
投与期間は該哺乳動物体における移植組織の許
存する。移植組織の一般的な節限的兆候は移植
組織により変化する。しかしながら、発熱、
組織機能障害等が当該移植の典型的臨床兆候と
られる。さらに、該組織機能障害の兆候は移植
組織に依るが、当業者において周知でありか
れている指標により特徴付けられる。

経過は、リンパ球の浸透度を決定するための切
バイオプシーや経皮的内心筋バイオプシー時の
シー、リンパ球細胞障害抗体生成の程度を決定
の血液アッセイまたは凝合リンパ球反応等の種
により計測することができる（参照例：Kre-
ger, (J. Immunol., 131, pp.
18 (1983), Bradley, 和臨免疫
で著記された方法における「混合リンパ球反応」
Hel and Shilling, eds.),
62-64 (W. H. Freeman and
Co., San Francisco, 1980)。

上記薬剤組成物はその活性成分の放出を制御し、
受容体におけるそれらの存在期間を延長するよう
にすることができる。このための好適な薬剤放出
が数多く知られており、例えば、ヒドロゲル、ミ
ニエマルセル、マイクロカプセル、リボン
マイグロエマルジョン、微小球等の態様が挙げら
れる。本発明によれば、移植組織と特定のLFA-3
結合蛋白質とを受容する哺乳動物体に対して、体重1kg
当たり約0.01ないし約10mg、より好ましくは
1ないし約5mg、最も好ましくは約0.1ないし
約1mgのLFA-3結合蛋白質が投与される。

また、移植組織と特定のCD2結合蛋白質とを
受容する哺乳動物体に対しては、体重1kg当たり約0
ないし約10mg、より好ましくは約0.01ないし
約1mg、最も好ましくは約0.01ないし約1mg
のCD2結合蛋白質が投与される。

該LFA-3またはCD2結合蛋白質または該
投与者の判断において、同種移植または異種移植

本発明の方法は、同種移植組織の場合の好まし
い態様において、移植前に二日間連続して一日当
たり1回LFA-3またはCD2結合蛋白質を投与
とから成る。より好ましくは、該LFA-3また
はCD2結合蛋白質を移植前に二日間連続して一日当
たり1回投与する。また、移植後に二日間連続して一日当
たり1回投与する。

また、本発明の方法は、異種移植組織の場合の
い実施態様において、移植前に、LFA-3また
はCD2結合蛋白質を供与細胞供給源からの組織と
受容体とから成る。ここでの「同時期に（con-
comitantly）」とは、異種移植
（移植組織以外）からの組織とLFA-3また
はCD2結合蛋白質との投与については、該結合蛋白質
な免疫応答を促進するに必要の有るレベルで該
供給源からの組織に結合するに足る時間内にこ
れが行われることを意味する。好ましくは、
結合蛋白質が細胞レベルで該異種移植供給源か
らに結合する。本発明の好ましい実施態様におい
て、一方の投与が他方の投与の約0ないし6時間以内

に投与し、おまにその後、一日ないし十日間続けて一日に1回投与する。もしも抗原種移植供給源の型と受容の種とが極めて不一致であれば、上述のスケジュールに従って、LFA-3またはCD2結合蛋白質を二日間続けて一日に1回当該抗原種移植供給源からの組織と同時に投与することが必要になる。好ましい実施態様においては、上述のスケジュールに従って、該結合蛋白質を該同時期投与の後および当該移植の前に5日ないし1日間続けて一日に1回投与する。また、最も好ましく、当該LFA-3またはCD2結合蛋白質と異種移植供給源からの組織との同時期投与を同時に行う。

理論に拘束されるわけではないが、出願人は異種移植供給源からの組織を、当該組織に対して特異的に反応する活性化した細胞の集団の増加を阻害するべく、哺乳動物にLFA-3またはCD2結合蛋白質と同時に投与した。而して、該LFA-3またはCD2の同時期投与は上記特定の異種移植供給源からの細胞により選ばれた抗原の特定の部分的組合に対して寛容性を誘引する。

実施例

実施例1

LFA-3モノクローナル抗体2B6およびモノクローナル抗体MOPC21の精製

1.E6ハイブリドーマ細胞(ATCC HB 2083)を40リットルの攪拌ガラス容器(Bellico, 205586060)中で、2%ウシ胎児血清、15μg/mlのストレプトマイシンおよび50μg/mlのゲンタマイシン(Gibco Life Technologies, Gaithersburg, Maryland)の存在下、RPMI1640培地中において、27℃で7-10日間培養した。この細胞を除いた培地を100リットルのカーバイ(NALGENE)に入れた。その後、アジ化ナトリウムを加えて最終濃度を0.02%にした。室温で、5μmファイバカートリッジ(Polygard, #CN500136, Millipore, Bedford, Massachusetts)により細胞破片を除いた後、0.2μmファイバカートリッジ(Polygard, #CN303E08, Millipore, Bedford,

Bedford)からの組織として最も好ましい効果を得ながら、これよりも低いあるいは高い投与スケジュールも適用可能である。

該LFA-3またはCD2結合蛋白質製剤は脾臓、筋肉内、皮下、関節内、経口、局所的または吸入等を介して投与で脾臓内または筋肉内投与が好ましいが、出現する体内における細胞が広範囲であるたにおけるより局所的な投与がより望ましい。

本発明の方法の好ましい実施態様において、物体への移植前に、移植組織の一面に抗原A-3やCD2結合蛋白質が塗られる。また、当該哺乳動物体への移植前に移植組織の一面にCD2またはLFA-3部位を塗る。LFA-3またはCD2結合蛋白質を塗る。

本発明をさらによく理解するために、以下を説明する。なお、これらの実施例は例示の本発明の範囲をこれに限るものではない。

に濃縮した。この50リットルの細胞を除く濃縮液を2倍量の平衡バッファー(0.15M塩化ナトリウム、pH8.9)で一晩、重力により、80m1のプロテイン(Protein A-Sepharose, Pharmacia and LKB, New Hampshire)を通過し、使用カラムを平衡バッファーで洗浄し、

スルホン酸ナトリウム(pH3.0)により抽出した。この抽出フラクションを1/10容積のIM-HEPES(pH7.8)中で、当該フラクションのA280吸光度に当該抽出蛋白質を含むフラクションを集めて保存した。このようにしてプロテインA結合部で約200リットルの細胞を除いた培養液。この種の吸光度を、2リットルのアコン(Acon)攪拌セル中でYM80フィルタ(N. Danvers, Massachusetts)を用いて溶解し、粗み合わせ、約10mg/濃縮した。その後、この濃縮物を5分間し

Bi Corporation, St. Louis, Missouri) から購入した飲水から精製し、ろ過水、3 M グリシン、1.5 M 塩化ム、pH 8.9 の「プロテイン A ローディングバッファー」(Protein A loading buffer) 中に希釈し、室温で 25 ml のプロテイン A ロース (Schleicher and Schell, Keene, New Hampshire) した。次いで、該カラムを 280 nm における光基準レベルに戻るまで上記ローディングバッファーより洗浄した。その後、結合した IgG を 50 mM ナトリウム (pH 3.0) により室温で溶出し、緩衝液のリン酸塩バッファー処理した塩酸食塩水にて一晩透析した。透析後、該 MOPC 21 をリン酸塩バッファー処理した生理食塩水中に膜閉鎖のスーパーコース-6 グル連通カラム (MacIa, Piscataway, New Jersey) 中に通した。次いで、該 MOPC 21

(Lewis, Missouri) を投与した抗体投与の際にそれぞれのヒトから 1 回また 2 回採取し、その後、8 日間経けて毎日、各投与回後は血液採取を行った。さらに、最初の投与日目として、8 日目、11 日目および 14 日目採取した。なお、他に記載しない限り、当該投与スケジュールのプロトコルを本実験例において記すすべてのアッセイにおいて用いた。

FA-3 モノクローナル抗体 1E6 についての検討

FA-3 モノクローナル抗体の一般的な毒性と、その身体的条件に与える潜在的効果、血液学、血液化学について評価した。なお、当該検討を各ヒトの一般的な身体的条件は不変であった。苦みつきを激しい副作用は見られなかった。さらに、および血液化学的にも概ね正常であった。特に、 Cl^- 、 K^+ 、クレアチン、血尿酸素、および ALT および AST のレベルはすべて正常な限であった。加えて、血液細胞の数、すなわち、ヘ

ット/ロ以下のエンドトキシンが含まれている分かった。以下、特に記載のない限り、すべての処理は室温下で行った。

実験例 2

抗 FA-3 抗体モノクローナル抗体 1E6 の投与後機能に関する効果

A. 投与およびサンプリングのプロトコル

2 頭の異系交配の成育したヒト A および B (Pamunbia) に 8 日間経けて 1 日に 1 回、カテーテル (Portacatheter) により抗 FA-3 モノクローナル抗体 1E6 を 1 mg/kg で静脈投与した。ヒト A の体重は 18 kg あり、ヒト B の体重は 2.5 kg であった。またとして、他の成育したヒト C (体重 8.4 kg) の非特異的なアイソタイプのマウスモノクローナル MOPC 21 (Sigma Chemical

C. 抗 FA-3 モノクローナル抗体 1E6 および MOPC 21 の血清レベル

抗体投与の 4 時間後に採取した血液から血清を採取した。さらに、1E6 を投与したヒト (ヒト A およびヒト B) の場合は、24 時間の間隔で、抗体投与の直前および 1 週間後に血清を採取した。また、8 日目および 14 日目に血清を採取した。次いで、該 MOPC 21 および 1E6 の血清レベルを山羊ウシ IgG (Jackson ImmunoResearch, Maitland, Pennsylvania) を塗布したマイクロタイタープレートを使用する ELISA を用いたマウス IgG レベルの計測により決めた。なお、これらの ELISA は実験例 1 において述べたに類似した MOPC 21 および 1E6 を用いてした。また、1FA-3 に結合可能な 1E6 (すなわち「活性」1E6) の血清レベルを FA-3 の A A A から成る可溶性の FA-3 水リベチン布したマイクロタイタープレートを使用する ELISA によって計測した (参照：米国特許第 4,958,200)。この ELISA もまた実験例 1 において述べた

の量は405 ngであった（データ表さず）。この結果、1 E 8 および M O P C 2 1 の血清レベルは1日目および5日目の間（約40-80 ng/ml 抗価）最高となり、8日目および11日目の間で投与前のレベルに戻った。なお、1 E 6 の投与前24時間の血清レベルは、1日目ないし5日目に採取した血清の投与前4時間のレベルの60%および80%の間で一貫して減少した。これに比して、M O P C 2 1 レベルは24時間後10%および20%の間で減少したのみであった。また、活性1 E 6 の割合は40%および70%の間で変化した。さらに、該1 E 6 の血清レベルはヒトAに比してヒトBの方が高く（体重9.5 kg対12 kg）、これ異なる組織空間分布によるものと考えられる。さらに、処理したヒトの血清における抗1 E 8 抗体のイター値をE L I S Aにより決定した。すなわち、精製した1 E 8 をマイクロタイフプレートに結合し、各社の血清を増加培養液においてアッセイした。（データ表さず）。

末梢血液単核細胞をF i c c i l l - H y p a q u e 濃縮液（P h a r m a c i a , P i s c a t a w a y , e w J e r s e y）上で当該製造者の指示に従って血から精製した。付着マクロファージを当該単核細胞プラスティック皿上での87℃で45分のインキュベーションにより除去した。また、非付着のリンパ球を生理的適合性のある培養液（R P M 1 6 4 0 , G i b c o L i f e T e c h n o l o g i e s , C a l i f o r n i a ; T e c h n o l o g i e s , G a i t h e r i n g , M a r y l a n d）において洗浄した。この後はファグスタ（F A C S , B e c t o n D i k i n s o n C o r p o r a t i o n , M o n t e r e y , C a l i f o r n i a）上のF A C 3 所により最小のマクロファージを含むことがわかった。なお、当該検出には、マクロファージ/単核細胞の表面抗原に特異的な蛍光ラベル化処理した抗体を用いた。その後、当該細胞を96-ウェル平底プレート（Immulon 2, 5 × 10⁵ M β-グルコブトエタールおよび非必須アミノ酸を加えたR P M 1 6 4 0 , G i b c o L i f e T e c h n o l o g i e s , C a l i f o r n i a ; T e c h n o l o g i e s , G a i t h e r i n g , M a r y l a n d）にお

D. インビトロでのT細胞の活性化アッセイ
1 E 6 投与のインビトロにおけるT細胞での効果を決定するために、末梢血液リンパ球投与したヒトから単離して、T細胞活性化およびフィトヘマグルチニンに反応する抗C D 2 モノクローナル抗体の活性アッセイした。なお、これらのアッセイの当末梢血液リンパ球をF i c c i l l - H y p a q u e（P h a r m a c i a , P i s c a t a w a y J e r s e y）上で当該製造者の指示に従って単離した。さらに、該末梢血液リンパ球に先立って血清で10%ウシ胎児血清を培養液中で一晩保存した。

1. T細胞依存型B細胞活性化アッセイ
T細胞依存型B細胞の免疫グロブリン分泌は抗L F A - 3 抗体により阻止すること（M O P C 2 1 を対照として使用）。

いで、E L I S Aを用いてヒトの免疫グロブリンで当該サンプルの上澄み液（上清液）を分離し、アッセイプレートには山羊の抗人間（J a c k s o n I m m u n o r e s M a t e r i a l , P e n n s y l v a n i a）にあり、当該グロブリンもまたヒトの免疫を認識するが、ウシ胎児血清中に存在するマウスの免疫グロブリンには結合しない。当該山羊の抗人間免疫グロブリンを塗布し、結合した培養上澄み液からの免疫グロブリンの抗人間免疫グロブリン試薬を用いて検出試薬には、酵素であるアルカリ性フォスファターゼを用いている（J a c k s o n I m m u n o r e s M a t e r i a l , P e n n s y l v a n i a）。次に、当該結合した免疫グロブリンをp N P P（パラニトースファクター）による比色変換においてすることにより定量した。なお、当該培養マックス（T h e r m o m a x M o d e l 9 6 D e v i c e , P a i n , A l t o , C a

1 E 8 投与の第2日目に減少し、11日目まで値の約35%に維持した(第1図)。

ヒトAの場合は、1-11日目のIg生成が投与レベルよりも高かった。これは、ヒトBの場合にヒトAの場合は到達した1 E 8 血清レベルが低阻われる。ここで、1ないし4日目に検出したレベルを基準値とすれば、5日目のIg分泌の0%であり、さらに、11日目の阻害は20%(第2図)。

ヒトCの場合は、MOPC 21の投与後、末梢パルスがIg生成のレベルを0日目のレベルに比自から11日目の間で増大している。

増殖アッセイ

増殖アッセイにおいては、本発明者は抗CD2-モノクローナル抗体若しくはフィトヘマグルチニン(「」)を血清化してヒトA、BおよびCから0日、5日目、8日目、11日目および14日目に検

測培養した。3日後、当該細胞を1 μ Ci/ウェルHdTにより18時間ラベル化して検出した。(示さず)。

この結果、ヒトBから得た末梢血液リンパ球はD2モノクローナル抗体の活性化に応じて³Hd込量の増加を全く示さず、また、0日目から14日において増殖能における増殖活性も極めて低かった。一方、ヒトAから得た末梢血液リンパ球は抗CD2モノクローナル抗体とPHAとに反応を示した。ち、4日目以降、これらの物質に応じた増殖が観察され、少なくとも14日目まで低い増殖率が知た。

また、MOPC 21の対照であるヒトCから末梢血液リンパ球はすべての条件下においてすべての期に極めて低い増殖活性を示した。

なお、ヒトCのT細胞増殖並びにヒトA、Bからの0日目の結果の再現性が得られないため、これらの有意差については明瞭でない。

TI P投与のリンパ球機能に関する効果

およびナンブリングのプロトコル

異系交配の繁殖したヒト(A、BおよびC、(Papio anubis))に5週間経てて、オートカテーテル(catheter)により植製した抗LFA3 TTP(Biogen Cambridge, Massachusetts)を3mg/kgで静脈投与した。最初の試験にそれぞれのヒトから1日ずつ血液を採取し、5日間経けて毎日、各投与の4時間後に血液採取した。さらに、最初の投与の日を1日目として、10日目、15日目および22日目に血液を採取した。他に特に記載しない限り、当該投与およびナンブリングのプロトコルを本実験例において記載するアッセイにおいて用いた。

LFA3 TTPについての毒理学的検討

ヒトA、B、Cの一次的な毒性セグメントの

および血液化学的にも正常であった。特に、 Ca^{2+} 、 K^{+} 、クレアチン、血尿酸、および肝ASTおよびALTのレベルはすべて正常な限界であった。加えて、血液細胞の数、すなわち、ヘマトクリット、白血球細胞、リンパ球、単核細胞、セグメント化好中球および好酸球等は正常な範囲であった。CD4/CD8表現細胞の比率も正常な範囲であった。

また、最後の投与後10日目のLFA3 TTPスラリーレベルは当該最後の投与の直後のLFA3 TTPレベルの約2%であり、マウスのモノクローナにおいて一般に見られる半減期よりもはるかに長がわかった。

また、CD4およびCD8表現細胞の世光ラベにより、約10%のCD4⁺細胞および約90%のCD8⁺細胞が最後の投与から10日後において依然としてLFA3 TTPにより被覆されていることがわ

実験例4

ヒトの心臓の同種移植セグ

たヒビ（体重32kg）に5mg/kgの投薬量で1日に開始して、移植前2日間続けて投与した。3日後、心臓のヘテロトピックな同種移植を3kgの若いヒビから得た心臓を用いて行った。当該移植の日に5mg/kgの1E6の1頭の投薬を行い、その後、10日間続けて1日に1頭この投薬を行った。また、胸腔サンプルを当該投与に先立って移植の2日前に採取した。さらに、移植血液サンプルを移植と同時に、また、それから5日、10日目、15日目、19日目および21日目に行った。次に、1E6の全血値レベルおよび血液濃度における低値な1E6の比率、すなわち、シドナー8に結可能な1E6のパーセントのアッセイを実験例2Cにべたように行った。当該ヒビには一般的な免疫抑制剤がなんら投与されていない。

その後、移植腔を毎日観察し、心臓の鼓動を触診および目視により評価してモニターした。さらに、心電図を1回取った。また、移植腔内心電バイオプシーを移植16日目に行った。この結果、上述の血液サンプルに

は当たり5mg/kgの投薬量で投与した。3日後に、同様のヘテロトピックな同種移植を若いヒビから得た心臓を用いて行った。なお、当該移植の日に5mg/kgのシドナー3T1Pを1頭投与し、その後、9日間続けて日に1回この投与を行った。

その後の血液サンプルの採取および分析、および同様の移植腔反応の評価を実験例4Aと実験例同一に行った。

この結果、当該シドナー3T1Pで処理したヒビにおける移植腔の生存期間が実験例のヒビにおいて生存した移植腔に比して延長し、当該シドナー3T1Pによる移植腔の拒絶反応が向上することがわかった。

本発明において有用なマウスのハイブリドーマ細胞が抗体は1991年3月5日にブダペスト条約に基づきアメリカンクイブカルチャーコレクション（Rockville, Maryland, USA）に寄託された。以下に示される。以下に示される。

表1 表名 ATCC 受入番号

1E6 HB 10A49

05-17（1999）。なお、当該拒絶システムの目的に付随して、心臓の鼓動および心電図の評価による鼓動の停止とさらに、心筋筋のリンパ管の異所的浸潤、液体の生成、および、ドナーの末梢血減少の反応をモニターした。その結果、免疫抑制5日以上当該システムにおいて移植腔組織はその拒絶レベルが向上したことを示す。1E6処置したヒビにおいては、移植した心臓が当該移植後23日において鼓動とした。したがって、度1E6は心臓の同種移植腔の拒絶反応の改善をもたらす。

B. シドナー3T1P処理

実験例4Aにおいて述べたものと実質的に同一、心臓同種移植の拒絶反応についてのPの知照を評価した。すなわち、移植したP（同上）を1頭の成育したヒビに移植前

（E. coli）J A 2-21は1991年ブダペスト条約に基づきアメリカンクイブコレクション（Rockville, Maryland, USA）に寄託され、以下の如く固定される。表1 表名 ATCC 受入番号 PSAB152 88720

トランスメンブランシドナー3をコードDのキャリアであるバクテリオファージは月28日にブダペスト条約に基づきインビテック（In Vitro International, Inc., Lincoln, Nebraska, USA）に寄託された。その後、当該1991年8月20日にアメリカンクイブカルチャーコレクションに移され、以下の如く固定される。

表1 表名 ATCC 受入番号 HT15 [Ag 110/LFA-3]

P1 連続シドナー3をコードするプラスミドを固定した大腸菌（E. coli）は1991年

1 DNA シーケンス

2 1 D NO: 2 トランスノンプラン LFA

3 アミノ酸シーケンス

4 1 D NO: 3 PI 選好 LFA-3 の DN

5 1 D NO: 4 PI 選好 LFA-3 のアミ

6 1 D NO: 5 CD2 の DNA シーケンス

7 1 D NO: 6 CD2 のアミノ酸シーケ

8 1 D NO: 7 LFA3T1P の DNA シ

9 1 D NO: 8 LFA3T1P のアミノ酸

10 如く本発明の数多くの実施態様を説明したが、
11 基本的実施態様は変更可能であり、したがって、
12 手法を利用する他の実施態様を当該変更によっ

13 コンピュータ読取可能形態

14 (A) 媒体種: フロッピーディスク

15 (B) コンピュータ: IBM PC 互換機

16 (C) オペレーティング システム: PC-DOS

17 (D) ソフトウェア: Patent In Re

18 e # 1, 0, Version # 1, 35

19 在の出願データ

20 A) 出願番号:

21 B) 出願日:

22 C) 分類:

23 れまでの出願データ

24 A) 出願番号: US 07/772,705

25 B) 出願日: 1991 年 10 月 7 日

26 理人 (ATTORNEY/AGENT) 情報

27 A) 氏名: Haley Jr., James

28 B) 事務所: 27, 704

(1) 一般情報

(I) 出願人: WALLNER, Barbara
BENJAMIN, Chris
er D.

(II) 発明の名称: LFA-3 または CD2 結
の発与による荷役移動または異種移動の発在
るための方法

(III) シーケンス数: 8

(IV) 通信アドレス

(A) アドレス: c/o FISH &
E

(B) ストリート: 875 Third
nue

(C) 市: ニューヨーク

(D) 州: ニューヨーク

(E) 国: U. S. A.

(F) ZIP: 10022

(2) SEQ ID NO: 1 の記載

(I) シーケンス特性

(A) 長さ: 758 塩基対

(B) 種類: 核酸

(C) 構成: 一本鎖

(D) トポロジー: 線形

(IX) 特徴

(A) NAME/KEY: CDS

(B) LOCATION: 1..750

(IX) 特徴

(A) NAME/KEY: sig_pep

e

(B) LOCATION: 1..84

(IX) 特徴

(A) NAME/KEY: mat_pep

e

(B) LOCATION: 85..750

(IX) 特徴

(A) NAME/KEY: misc_fe

re

2 GTC GTC GGC AGC GAC GCG GCG GCG GCG GTC GCG GTC GTC AGC GTC 46
 Val Ala Gly Ser Asp Ala Gly Arg Ala Leu Gly Val Leu Ser Val
 23 20 13
 3 TGC CTC GAC TGC TGT GGT TGC ATC AGC GGT TTT TCC GAA GAA 96
 Cys Leu Leu His Cys Phe Gly Phe Ile Ser Cys Phe Ser Gln Gln
 10 3
 4 TAT GGT GTT GTT TAT GCG AAT GTA AGT TTC GAT GGA GCA AGC AAT 124
 Tyr Gly Val Val Tyr Gly Asp Val Thr Phe His Val Phe Ser Asp
 20 13 20
 5 CCT TTA AAA GAG CTC CTA TGC AAA AAA GAA AAG GAT AAT TTT GCA 192
 Pro Leu Lys Gln Val Leu Trp Lys Lys Gln Lys Asp Lys Val Ala
 23 30 35
 6 CTC GAA AAT TGT GAA TTC GGA GGT TTC TCA TCT TTT AAA AAT AGC 260
 Leu Gln Asn Ser Gln Phe Arg Ala Phe Ser Ser Phe Lys Asn Arg
 40 43 50
 7 TAT TTA GAC AGT CTC TCA GGT AGC CTC AGT ATC TAC AAG TTA ACA 288
 Tyr Leu Asp Thr Val Ser Gly Ser Leu Thr Ile Tyr Asn Leu Thr
 55 60 65
 8 TCA GAT GAA GAT GAG TAT GAA ATC GAA TCC GGA AAT ATT ACT GAT 324
 Ser Asp Gln Asp Gln Tyr Gln Met Gln Ser Phe Asn Ile Thr Asp
 70 75 80
 9 AIC AAG TTC TTT CTC TAT GTC GTT GAC TCT GTT GCA TCT GCG ACA 360
 Met Lys Phe Phe Lac Tyr Val Leu Gln Ser Leu Phe Ser Phe Thr
 85 95 100

TTA TTT AAT ACA ACA TCA TCA ATC ATT TTC AGA AGC TGT ATC G
 Leu Phe Asn Thr Thr Ser Ser Ile Ile Leu Thr Thr Cys Ile P
 105 130 175
 AGG GGT GAT TCA ACA GAC AGA TAT GCA GTT ATA GCG ATA GCA T
 Ser Gly Ala Ser Arg His Arg Tyr Ala Leu Ile Phe Ile Phe I
 185 190
 GTA ATT ACA ACA TGT ATT GTC GTT TAT ATT AAT GGT ATT GTT A
 Val Ile Thr Thr Cys Phe Val Leu Leu Tyr Met Asn Gly Ile Leu I
 200 205 210
 GAC AGA AAA GCA GAC AGA AGC AAG TCC AAT TCA
 Asp Arg Lys Phe Asp Arg Thr Asn Ser Asn
 215 220

SEQ ID NO: 2 の情報

1) シーケンス特性

- (A) 長さ: 250 アミノ酸
- (B) 種類: プミノ酸
- (C) トポロジー: 線形

2) 分子の組織: 単白質

1) シーケンス配列: SEQ ID NO: 2

Met Val Ala Gly Ser Asp Ala Gly Arg Ala Leu Gly Val Leu Ser Val
 10 15 20
 Val Cys Leu Leu His Cys Phe Gly Phe Ile Ser Cys Phe Ser Gln Gln
 25 30
 Ile Tyr Gly Val Val Tyr Gly Asp Val Thr Phe His Val Phe Ser Asn
 35 40
 Val Pro Leu Lys Gln Val Leu Trp Lys Lys Gln Lys Asp Lys Val Ala
 45 50 55

Gln Leu Gln Asn Ser Gln Phe Arg Ala Phe Ser Ser Phe Lys A
 60 65
 Val Tyr Leu Asp Thr Val Ser Gly Ser Leu Thr Ile Tyr Asn L
 70 75
 Ser Ser Asp Gln Asn Gln Tyr Gln Met Gln Ser Phe Asn Ile Ti
 80 85
 Thr Met Lys Phe Phe Leu Tyr Val Leu Gln Ser Leu Phe Ser P
 90 95
 Leu Thr Cys Ala Leu Thr Asn Gly Ser Ile Gln Val Gln Cys Hi
 100 105
 Pro Gln His Tyr Asn Ser His Arg Gly Leu Ile Met Tyr Ser T
 110 115
 Cys Pro Met Gln Gln Cys Lys Arg Asn Ser Thr Ser Ile Tyr H
 120 125
 Met Gln Asn Asp Leu Pro Gln Lys His Gln Cys Thr Leu Ser A
 130 135
 Leu Phe Asn Thr Thr Ser Ser Ile Ile Leu Thr Thr Cys Ile P
 140 145
 Ser Gly His Ser Arg His Arg Tyr Ala Leu His Phe Ile Phe L
 150 155
 Val Ile Thr Thr Cys Ile Val Leu Tyr Met Asp Gly Ile Leu L
 160 165
 Asp Arg Lys Phe Asp Arg Thr Asn Ser Asn
 170 175

A) NAME/KEY: CDB

B) LOCATION: 1...720

A) NAME/KEY: sig_peptid

B) LOCATION: 1...84

A) NAME/KEY: mat_peptid

B) LOCATION: 85...720

A) NAME/KEY: misc_featu

B) LOCATION: 1...720

(D) 他の情報: /note="Human P
linked LFA-3"

A) NAME/KEY: misc_featu

G CAG GAA TGT AAA GGT AAC TCA AGC AGT ATA TAT TTT AAG 528
G Gln Gln Cys Lys Arg Ala Ser Thr Ser Ile Tyr Phe Tyr
3 140 145

T GAT CTT CCA GAA AAA ATA CAG TGT ACT CTT AGC AAT CCA 536
A Asp Leu Pro Gln Lys Ile Gln Cys Thr Leu Ser Asn Pro
153 160

T ACA ACA TCA TCA ATG ATT TTT ACA ACC TGT ATC CCA AGC 624
D Thr Thr Ser Ser Ile Ile Leu Thr Thr Cys Ile Pro Ser
170 175 180

T TCA AAA CAG ACA TAT CCA CTT ATA GCG ATA CCA TTA CCA 632
S Ser Arg His Arg Tyr Asn Leu Ile Pro Ile Pro Leu Ala
183 190 195

A ACA TGT ATT CCG CCG TAT ATG AAT GGT ATG TAT GGT TTT 720
A Thr Cys Ile Val Leu Tyr Gln Asn Gly Met Tyr Ala Phe
200 205 210

723

ATG GAT GGT GGG AAT GAA GAG GAG GAG GAG GAG GAG GAG 15
Met Val Ala Gly Ser Asp Ala Gly Arg Ala Leu Gly Val Leu Ser
28 25 20 15

ATG GCG GCG GCG CAG TGC TTC GGT TTC ATG AGC AGC TGT TTT TCC GAA 10
Val Cys Leu Leu His Cys Phe Gly Phe Ile Ser Cys Phe Ser Gln
10 5 1

ATA TAT GGT GGT CCG TAT GCG AAT GTA ACT TTC CAT GCA GCA AGC 5
Ile Tyr Gly Val Val Tyr Gly Asn Val Thr Phe His Val Pro Ser
5 10 15

CTG GGT TTA AAA CAG CTC GCA TCG AAA AAA CAA AAG GAT AAA GTC 35
Val Pro Leu Lys Gln Val Leu Trp Lys Lys Gln Lys Asp Lys Val
25 30 35

GAA CTG GAA AAT TGT GAA TTC ACA GGT TTC TCA TGT TTT AAA AAT 60
Glu Leu Glu Asn Ser Glu Phe Arg Ala Phe Ser Ser Phe Lys Met
60 65 65

CTG TAT TTA GAC AGT CTC TCA GGT AGC CTC ACT ATC TAC AAG TTT 55
Val Tyr Leu Asp Thr Val Ser Gly Ser Ser Thr Ile Tyr Asn Leu
55 60 65

TCA TCA GAT GAA GAT GAG TAT GAA ATG GAA TCG GCA AAT ATT AC 70
Ser Ser Asp Gln Asp Gln Tyr Gln Met Glu Ser Pro Asn Ile Thr
70 75 80

AGC ATG AAG TTC TTT GGT TAT CTC ATT GAG TGT CTT GCA TGT CC 85
Thr Met Lys Phe Phe Leu Tyr Val Leu Glu Ser Leu Pro Ser Tyr
85 90 95

GTA ACT TGT GCA TTT AGT AAT GCA AGC ATT GAA CTC GAA TCG AT 105
Leu Thr Cys Ala Leu Thr Asn Gly Ser Ile Gln Val Gln Cys Met
105 110 115

GCA CAG CAT TAC AAC AGC GAT GCA GCA CTC ATA ATG TAC TCA TT 120
Pro Gln His Tyr Asn Ser His Arg Gly Leu Ile Met Tyr Ser Trp
120 125 130

(2) SEQ ID NO: 4 の情報

(1) シーケンス特性

(A) 長さ: 240 アミノ酸

(B) 種類: アミノ酸

(C) トポロジー: 線形

(II) 分子の種類: 蛋白質

(X1) シーケンス配列: SEQ ID NO:

Met Val Ile Gly Ser Asp Ala Gly Arg Ala Leu Gly Val Leu 25
28 25 20 15

Val Cys Leu Leu His Cys Phe Gly Phe Ile Ser Cys Phe Ser 1
10 5 1

Ile Tyr Gly Val Val Tyr Gly Asn Val Thr Phe His Val Pro 15
5 10 15

Val Pro Leu Lys Gln Val Leu Trp Lys Lys Gln Lys Asp Lys 30
25 30

Gln Leu Glu Asn Ser Glu Phe Arg Ala Phe Ser Ser Phe Lys 50
40 45 50

Val Tyr Leu Asp Thr Val Ser Gly Ser Leu Thr Ile Tyr Asn 65
55 60 65

Ser Ser Asp Gln Asp Gln Tyr Gln Met Glu Ser Pro Asn Ile 80
70 75 80

```

      (A) NAME/KEY: CDS
      (B) LOCATION: 1. . 1

(IX) 特徴
      (A) NAME/KEY: sig _
      (B) LOCATION: 1. . 7

(X) 特徴
      (A) NAME/KEY: met _
      (B) LOCATION: 73. .

(XI) 特徴
      (A) NAME/KEY: m! o c
      (B) LOCATION: 1. . 1
      (C) 他の情報: /note - * H
D 2
(IX) 特徴

```

(A) NAME / KEY : m i s c _ f e e t u

(D) LOCATION : 628 . . 702

(D) 他の情報: /note - "Transme
ane domain"

シーケンス配列 : SEQ ID NO : 5

2 AUG 111 00A 307 44A 111 07A 00C 00C 110 001 010 001 110 001 001
1 107 110 110 010 110 110 110 110 110 110 110 110 110 110 110
1 107 110 110 010 110 110 110 110 110 110 110 110 110 110 110

L Ser PGC AAA GGT CGA GTG PGC AAA GAG RTT ACC AAT GGG ITG CAA
L Ser Ser Lys Gly Ala Val Ser Lys Glu Ile Thr Asn Ala Leu Glu

2 TGC GGT GCG TTC GAT CAG CAC ATC AAC TTG CAG ATT GGT AGT TTT
 3 TTP Gty Ala Leu Gly Gln Asp His Asn Gln Asp Ile Pro Ser Phe
 4 10 25 29

4 AGC AGT GAT GAT ATT GAC GAT ATA AAG TGG CAA AAA AGT TCA GAC
1 TGC GAT AAG AAG 116 AAG AAG 116 Lys TTP Gln Lys Thr Ser Asp
30 35 40

2 AAA AAC ATT GGA GAA TTC ACG AAA GAG AAA GAG ACT TTC AAC GAA
 1 Lys Lys Ile Ala Glp Phe Arg Lys Glu Lys Glu Thr Phe Lys Glu
 50 25

AAA GAT ACA GAT AAG GTA TTT AAA AAT CGA ATT CTC AAA ATT
Lys Asp Thr Lys Lys Leu Phe Lys Asn Gly Thr Leu Lys Ile
68 69 70

GTC AAC ACC GAT GAT CAG GAT ATC TAC AAG GCA TCA ATA TAT C
 Leu Lys Thr Asp Asp Glu Asp His Tyr Lys Val Ser His Tyr
 75 80 85

AAA GGA AAA AAT GTC TTG CAA AAA ATA TTT GAT TCG AAG ATT C
Lys Gly Lys Asn Val Leu Glu Lys Ile Phe Asp Leu Lys Ile C

AAG GTC TCA AAA CCA AAG ATC TGC TGC AGT TTT ATC AAG ACA
 AGT GAT SGC TYP PTC TTT TTA SGC TGC TGC TTT TTA AAT TTT
 103 110 113

AOC TFI GAG GTA ATG AAT CGA AGT GAG CCG GAA TTA AAG CTC
 TGT Gys GSA Val Met Asp Gly Thr Asp Phe Glu Ser Ser Gln

GAT GGC AAA GAG GTA AAG GTT TGT CAG ACG GTC ATC AGA CAG
 AAG GTC Lys His Leu Lys Ser Gln Arg Val Ile Thr Met
 180 185 190 195 200

AGC AGC AGC GCG AGT CGA AAA TTC AAC TCG AGA GGA GGC AAG
TAT TAT TAT Ser Leu Ser Ala Lys Phe Lys Cys Thr Ala Gly Asn

AGC AAG GAA TCC ATT CTC CAG CCG CTC AGC TGT CCA GAG AAG
Ser Iys Glu Ser Ser Val Glu Pro Val Ser Tyr Pro Glu Lys

CCA CCA ACT TCC CAA CAT CCA OCT OCT CCA CCA OCT OCT CAT 464
 Pro Ala Thr Ser Gln His Pro Pro Pro Pro Pro Gly His
 251 263

CCA OCT ACT CAT OCT CCC CCC OCT OCT CCA CAC CCA OCT 512
 Ala Pro Ser His Arg Pro Pro Pro Pro Gly His Arg Val
 270 275 280

OCT CAG AAC AAG OCT OCT OCT CCA TCC CCA CCA CCA OCT 960
 Pro Gln Lys Arg Pro Pro Ala Pro Ser Gly Thr Gln Val
 285 290 295

AAA CCC CCC CCC CTC CCC AGA CCT CCA CTC CAA CCA AAA 1008
 Lys Gly Pro Pro Leu Pro Arg Pro Arg Val Gln Pro Lys
 300 305 310

CCC CCA CCA CAA AAC TCA TTC TCC OCT TCC TCT AAA 1056
 Gly Ala His Gln Asp Ser Leu Ser Pro Ser Ser Ala
 320 325

Met Ser Pro Pro Cys Lys Pro Val Ala Ser Thr Leu Leu His Pro
 326 338 343

Val Ser Ser Lys Gly Ala Val Ser Lys Gln His Thr Arg Ala Leu
 345 350

y Ala Leu Gly Gln Asp Ile Asn Leu Asp Ile Pro Ser His
 15 20

r Asp Arg His Asp Asp Ile Lys Trp Gln Lys Thr Ser Asp
 30 35

v His Ala Gln Thr Arg Lys Gln Lys Gln Thr Phe Lys Gln
 40 45

r Tyr Lys Leu Phe Lys Asn Gly Thr Leu Lys Ile Lys His
 50 55

c Asp Asp Gln Asp Ile Tyr Lys Val Ser Ile Tyr Asn Thr
 60 65

e Asn Val Leu Gln Lys Ile Asn Asp Leu Lys Ile Gln Gln
 70 75

c Lys Pro Lys Ile Ser Trp Thr Cys Ile Asn Thr Thr Leu
 80 85

i Val Met Asn Gly Thr Asp Pro Gln Leu Asn Leu Tyr Gln
 90 95

v His Leu Lys Leu Ser Gln Arg Val Ile Thr His Lys Trp
 100 105

r Leu Ser Ala Lys Thr Lys Cys Thr Ala Gly Asn Lys Val
 110 115

j Ser Ser Val Gln Pro Val Ser Cys Pro Gln Lys Gly Leu
 120 125

r Leu His Ile Gly Ile Cys Gly Gly Gly Ser Leu Leu Met
 130 135

l Ala Leu Leu Val Phe Tyr Ile Thr Lys Arg Lys Lys Gln
 140 145

g Arg Asn Asp Gln Cys Leu Gln Thr Arg Ala His Arg Val
 150 155

a Gln Arg Gly Arg Lys Pro His Gln Ile Pro Ala Ser Thr
 160 165

o Pro Ala Thr Ser Gln His Pro Pro Pro Pro Gly His
 170 175

His Gln Gln Lys Gly Pro Pro Leu Pro Arg Pro Arg Val Gln Pro Lys
 300 305 310

Pro Pro His Gly Ala Ala Gln Asn Ser Leu Ser Pro Ser Ser Asn
 315 320 325

V G)

[X I] シーケンス配列 - SEQ I D N

アンチセンス (ANTI-SENSE) : 図 (N

特徴

(A) NAME/KEY: CDS

(B) LOCATION: 1..1041

特徴

(A) NAME/KEY: sis-peptide

(B) LOCATION: 1..84

特徴

(A) NAME/KEY: mat-peptide

(B) LOCATION: 85..1041

特徴

(A) NAME/KEY: misc-feature

(B) LOCATION: 1..1041

ATC GTT GCT GCG AGC GAC GGC GGG GGG GCG GCG GCG GCG GCG
Met Val Ala Gly Ser Asp Ala Gly Arg Ala Leu Gly Val Leu
-28 -25 -20

GTG TGC GCG GCG GAC TGC TTT GGT TTC ATC AGC TGT TTT T
Val Cys Leu Leu Phe Cys Phe Gly Phe Ile Ser Cys Phe Ser
-10 -5

ATA TAT GGT GGT GTC TAT GCG AAT GCA ACT TTC GAT GTA G
Ile Tyr Gly Val Val Tyr Gly Asn Val Thr Phe His Val Ser
3 10 15

TAA AAA GAG CTC CTA TCG AAA AAA CAA AAC GAT AAA GTT GCA
Leu Lys Glu Val Leu Trp Lys Lys Glu Lys Asp Lys Val Ala
25 35 45

GAA AAT TCT GAA TTC AGA GCT CTC TCA TTT TTT AAA AAC AGG
Glu Asn Asn Gln Phe Arg Ala Phe Ser Ser Phe Lys Asn Arg
50 60 70

TTA GAC ACT GTG TTA GGT AGC CTC AGT ATC TAC AAC TTA AAT
Leu Asp Thr Val Ser Gly Ser Leu Thr Ile Tyr Asn Ser Thr
85 95 105

GAT GAA GAT GAG TAT GAA ATC GAA TCG GCA AAT ATT ACT GAT
Asn Glu Asp Glu Tyr Glu Met Glu Ser Pro Asn Ile Thr Asp
120 130 140

AAC TTC TTT CTT TAT GTC GAC AAA ACT GAC AGA TCG GCA GCG
Lys Phe Phe Leu Tyr Val Asp Lys Thr Met Thr Cys Pro Pro
150 160 170

GCA GGT GAA CTC CTC GCG GCA GCG TCA GTC TTC CTC TTC GCG
Ala Pro Glu Leu Leu Glu Gly Phe Ser Val Phe Leu Phe Pro
185 195 205

GCG AAC GAG AGC GTC ATC ATC TCG GCG AGC GGT GAG TTC AGA
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
220 230 240

GTG GTC GAC GTC AGC GAC GAA GAC GGT GAG GTG AAC TTC AAC
Val Val Arg Val Ser His Glu Arg Pro Glu Val Lys Phe Asn
260 270 280

GTC GAC GCG GTG GAC GTG GAT AAT GCG AAC ACA AAT GCG GCG
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
300 310 320

GAG TAC AAC AGC AGC TAC GCG GTC GTC AGC GTC GTC AGC GTC
Glu Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
340 350 360

GAG GAC TCG TTC AAT GCG AAC GAT TAC AAC TCG AAC GTC TCG
Glu Asp Trp Leu Asn Gly Leu Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
380 390 400

GCG CTC GCA GCG GCG ATC GAG AAA AGC ATC TCG AAA GCG AAA
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
420 430 440

TAT GCG AGC GAC ATC GCG GTC GAG TCG GAC AGC AAT GCG GCG
Tyr Pro Ser Asp Phe Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Glu Pro G
245 250 255

AAC AAC TAC AAC ACT AGC GGT GCG GTC CTC GAC TCG GAC GCG TCG
Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser P
265 270 275

TTC GTC TAC AGC AAC CTC AGC TTC GAC AAC AGC AGC TCG GAC GAC G
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Glu Glu G
280 285 290

AAC CTC TTC TCA GCG TCG GTC ATC GAT GAG GGT GTC GAC AAC GAC T
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met Met Glu Ala Leu His Asn His T
305 310 315

AGC GAG AAG AGC GTC TCG CTC TGT GGT GGT AAA TACATCGCG
Thr Glu Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
320 325

Val Ala Gly Ser Asp Ala Gly Arg Ala Leu Gly Val Leu Ser Val
 23 22 13
 Cys Leu Leu His Cys Phe Gly Phe Ile Ser Cys Phe Ser Glu Glu
 10 4
 Tyr Gly Val Val Tyr Gly Asp Val Thr Phe His Val Pro Ser Asn
 10 11 20
 Phe Leu Lys Glu Val Leu Trp Lys Lys Glu Lys Asp Lys Val Ala
 21 30 35
 Leu Glu Asn Ser Glu Phe Arg Ala Phe Ser Ser Phe Lys Asn Arg
 40 50
 Tyr Leu Asp Thr Val Ser Gly Ser Leu Phe Ile Tyr Asn Leu Thr
 55 60 65
 Ser Asp Glu Asp Glu Tyr Glu Met Glu Ser Pro Asn Ile Thr Asp
 70 75 80
 Met Lys Phe Phe Leu Tyr Val Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Phe
 80 95 100

165 190 195
 Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala L
 200 205 210
 Gly Glu Pro Arg Glu Pro Glu Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg A
 215 220 225
 Glu Leu Thr Lys Asn Glu Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly H
 230 235 240
 Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Glu Pro G
 245 250 255
 Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser K
 260 265 270 275
 Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Glu Glu G
 280 285 290
 Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His T
 295 300 305
 Thr Glu Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 310 315

FIG. 1

丁細胞培養液B細胞の活性アッセイ
 ヒヒB (1E6)

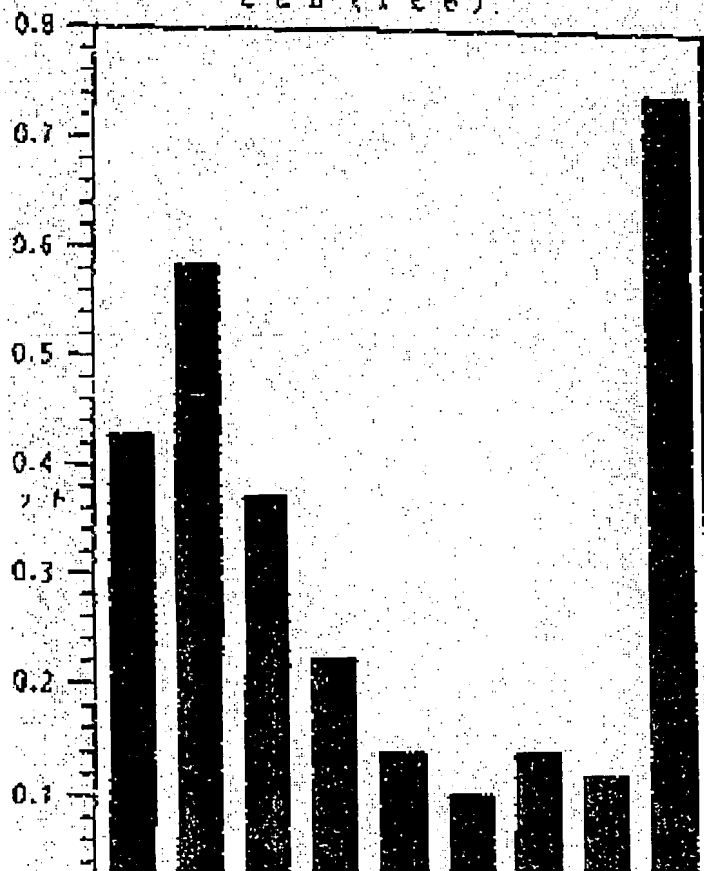
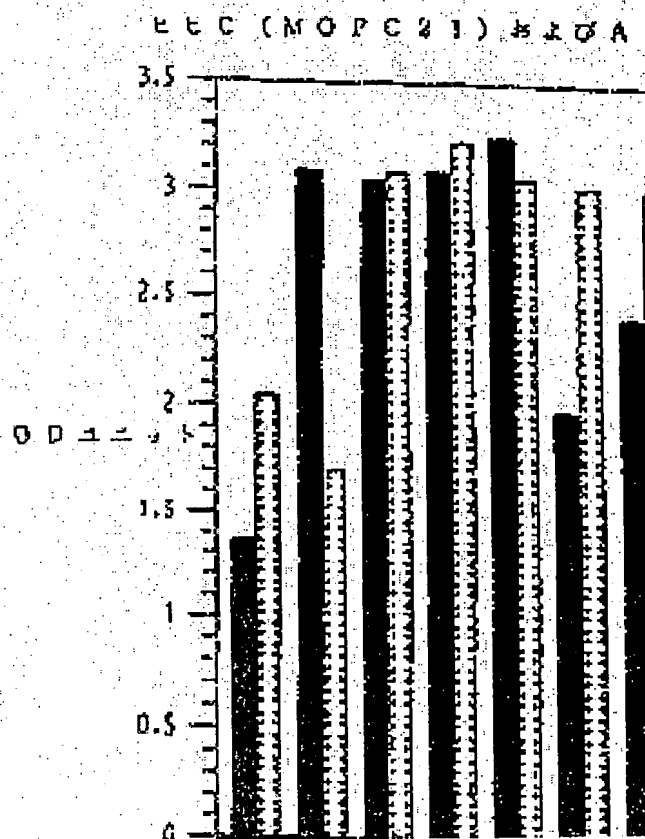


FIG. 2

丁細胞培養液B細胞の活性アッセイ



刊の名称 特定種のLFA-3またはCD2結合蛋白質を投与すること
による同種移植または異種移植の寛容性を改善するための方
法

刊出願人

上 所 アメリカ合衆国 02142 マサチューセッツ州
ケインブリッジ ケインブリッジ センター 14
名 称 バイオゲン インコーポレイテッド

通人

住 所 〒105 東京都港区虎の門1丁目2番3号
虎の門第1ビル5階
電話 03 (3504) 3075 (代)
氏 名 井原士 (8380) 三 好 秀 和

正審の提出年月日 1993年11月3日

付審類の目録

補正書の翻訳文

1頁

補正書の翻訳文提出書
(特許法184条の8)

平成5年 4月 7日

官 報

の表示 PCT/US92/08734

の名称 特定種のLFA-3またはCD2結合蛋白質を投与すること
による同種移植または異種移植の寛容性を改善するための方
法

出願人

所 アメリカ合衆国 02142 マサチューセッツ州
ケインブリッジ ケインブリッジ センター 14
名 称 バイオゲン インコーポレイテッド

人

所 〒105 東京都港区虎の門1丁目2番3号
虎の門第1ビル5階
電話 03 (3504) 3075 (代)
名 井原士 (8380) 三 好 秀 和

の提出年月日 1993年11月5日

unol. Reviews, 127, pp.
2 (1990))、Mauer、「T細胞
: 30 kD T11 抗原血症受容体蛋白質の
役割」(Cell, 36, pp. 807-
84))、Sanchez-Madrid
-リンパ球-媒介の細胞溶解を伴う三種の
LFA-1、iFA-2およびLFA-3
Natl. Acad. Sci. USA, 7
489-98 (1982))、Bromb
transplantation, 61, p
225 (1981)、EP 0 260
。

(原文第63Aおよび第67ページの補正文)

47. LFA-3またはCD2結合蛋白質
を特徴とする人間を含む哺乳動物に移植し
殖または異種移植組織の寛容性を改善する
48. 前記LFA-3結合蛋白質が可溶性
ペプチドであることを特徴とする請求項4
項。

49. 前記LFA-3結合蛋白質がモノク
LFA-3抗体であることを特徴とする請
求項の医薬。

50. 受入番号ATCC HB 1059
ATCC HB 10694 (HC-1 B
CC HB 10695 (TAB)、AT
10886 (SBB) を有するハイブリド
されるハイブリドーマにより生成されるか
モノクローナル抗体T52/9であること
請求項43に記載の医薬。

51. 前記CD2結合蛋白質がモノクロー
2抗体であることを特徴とする請求項47

する請求項４７に記載の医薬。

前記結合蛋白質がＦαβフラグメント、Ｆεγ
メント、Ｆ（αβ）：フラグメント、Ｆ（γ）
メントおよび前記抗原とＡ－３または抗ＣＤ２モ
ーナル抗体の完全な免疫グロブリンＨ鎖から選択
ことを特徴とする請求項４９に記載の医薬。

前記結合蛋白質がＬＦＡ－３結合蛋白質、ＣＤ２
蛋白質および薬剤から成る群から選択される１種以
上に結合することを特徴とする請求項４７に記載
の。

前記結合蛋白質が人間の免疫グロブリンＨ鎖のヒ
スチジンおよび不飽和領域またはこれらの一部分に連結し
たＬＦＡ－３ポリペプチドであることを特徴とする
請求項５７に記載の医薬。

前記可溶性ＬＦＡ－３ポリペプチドがSEQ ID
NO: 2のAA、-AA...、SEQ ID NO:
AA、-AA...、SEQ ID NO: 2のAA...
...、SEQ ID NO: 2のAA...-AA...か

国 際 特 許 公 報

NO. 99/008307 (OHA FARMER CANCER
INSTITUTE) 25 July 1999 cited in the application
see page 12, line 21 - page 13, line 16; claims

EP A 626086 (OHA FARMER CANCER
INSTITUTE, INC.) 23 March 1998
see page 10, line 18 - line 18; claims

WORLD JOURNAL vol. 1, no. 1, January 1991,
BALTIMORE MD, US pages 219 - 223 J. BROWNE ET
AL. "Anti-CD2 monoclonal antibodies alter
cell-mediated cytotoxicity in vitro"
see page 223, left column, line 11 - line 29 see
abstract

PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES
OF THE USA vol. 87, no. 7, April 1990, WASHINGTON
DC, US pages 2093 - 2607 S. KIMURA ET AL. "Role
of interaction of CD2 molecules with lymphocyte
function-associated antigen 3 in T-cell
recognition of antigenic peptides."
see the whole document

4. Items 1-4
between the 12.5 degree marks and for the 12.5 degree marks 4-12.5 and 12.5-17.5 and 17.5-22.5

5. Items 1-4
between the 12.5 degree marks and for the 12.5 degree marks 4-12.5 and 12.5-17.5 and 17.5-22.5

6. Items 1-4
between the 12.5 degree marks and for the 12.5 degree marks 4-12.5 and 12.5-17.5 and 17.5-22.5

7. Items 1-4
between the 12.5 degree marks and for the 12.5 degree marks 4-12.5 and 12.5-17.5 and 17.5-22.5

8. Items 1-4
between the 12.5 degree marks and for the 12.5 degree marks 4-12.5 and 12.5-17.5 and 17.5-22.5

9. Items 1-4
between the 12.5 degree marks and for the 12.5 degree marks 4-12.5 and 12.5-17.5 and 17.5-22.5

10. Items 1-4
between the 12.5 degree marks and for the 12.5 degree marks 4-12.5 and 12.5-17.5 and 17.5-22.5

11. Items 1-4
between the 12.5 degree marks and for the 12.5 degree marks 4-12.5 and 12.5-17.5 and 17.5-22.5

12. Items 1-4
between the 12.5 degree marks and for the 12.5 degree marks 4-12.5 and 12.5-17.5 and 17.5-22.5

13. Items 1-4

☐ The 12.5 degree marks and for the 12.5 degree marks 4-12.5 and 12.5-17.5 and 17.5-22.5

☐ The 12.5 degree marks and for the 12.5 degree marks 4-12.5 and 12.5-17.5 and 17.5-22.5

14. Items 1-4
between the 12.5 degree marks and for the 12.5 degree marks 4-12.5 and 12.5-17.5 and 17.5-22.5

15. Items 1-4

For more details about the items, see the 12.5 degree marks and for the 12.5 degree marks 4-12.5 and 12.5-17.5 and 17.5-22.5

16. Items 1-4

17. Items 1-4

識別記号 庁内整理番号

FI

61K 39/395

U 9284-4C

18. Items 1-4
between the 12.5 degree marks and for the 12.5 degree marks 4-12.5 and 12.5-17.5 and 17.5-22.5